

A CONTROLOC GYORSTESZT ÉS A POLIMERÁZ LÁNCREAKCIÓ ÉRTÉKELÉSE A *HELICOBACTER PYLORI* FERTŐZÉS ERADIKÁCIÓ ELŐTTI DIAGNÓZISÁBAN

Dr. Buzás György Miklós,⁽¹⁾ Dr. Illyés György,⁽²⁾ Dr. Györffy Hajnalka,⁽²⁾ Dr. Jeney Csaba,⁽³⁾
Dr. Hernold László,⁽³⁾ Dr. Tóth Balázs⁽⁴⁾

(1) Ferencvárosi Egészségügyi Szolgálat, Gasztroenterológia, Budapest

(2) Semmelweis Egyetem, Általános Orvosi Kar, II. Patológiai Intézet, Budapest

(3) MH Központi Honvédkórház, H-med Diagnosztika Központi Laboratórium, Budapest

(4) Országos Baleseti Intézet, Kísérleti Osztály, Budapest

ÖSSZEFOGLALÁS: A szerzők a Controloc ureáz gyorseszteszt és a polimeráz láncreakció eredményességét értékeli ki 168 beteg adatait feldolgozva. A meghatározásokat antrum és corpus szövetszövetmintából végezték. Arany standardként a szövetszöveti vizsgálatot (módosított Giemsa-festés) alkalmazták. Mindhárom tesztesetben kiszámították a *Helicobacter pylori* fertőzés gyakoriságát, illetve a Controloc gyorseszteszt és a PCR szenzitivitását, specifikitását, pozitív és negatív prediktív értékét. A szövetszövet az antrumban 62,1, a corpusban 53,2%-ban, a Controloc gyorseszteszt 62,1 és 56,2%-ban, a polimeráz láncreakció 65,0, illetve 64,4%-ban mutatta ki a kórokozót. A Controloc gyorseszteszt szenzitivitása 89,2%-os az antrumban és 96%-os a corpusban, specifikitása 87,9 és 93,7%-os, a polimeráz láncreakció szenzitivitása 93,3 és 94,5%-os, specifikitása 81,0 és 87,3%-os. A szerzők a *Helicobacter*-fertőzés eradikáció előtti diagnosztikájában elsősorban a szövetszöveti vizsgálatot ajánlják, mivel pontos és kettős, patológiai és bakteriológiai információt ad. A Controloc teszt pontossága és gyorsasága miatt rutin diagnosztikai módszerként kiválóan alkalmazható. A polimeráz láncreakció szintén pontos, de idő-, munka- és költségigényes, az eradikáció előtti diagnózisban akkor indokolt, ha egyéb módszerek nem eredményesek.

Buzás GyM, Illyés Gy, Györffy H, Jeney Cs, Hernold L, Tóth B: EVALUATION OF CONTROLOC UREASE TEST AND POLYMERASE CHAIN REACTION IN THE DIAGNOSIS OF *HELICOBACTER PYLORI* INFECTION BEFORE ERADICATION

SUMMARY: The authors evaluated the accuracy of the Controloc rapid urease test and polymerase chain reaction in 168 patients. The determinations were performed from antral and corporeal biopsic specimens. The prevalence of *Helicobacter pylori* infection and the sensitivity, specificity, positive and negative predictive values were calculated. Histology (modified Giemsa stain) was used as gold standard. Histology has shown the presence of infection in 62.1% antral and 53.1% of corporeal specimens; the similar results of Controloc test were of 62.1% and 56.2%, respectively. Polymerase chain reaction was positive in 65.0% of antral and 64.4% of corporeal specimens. The sensitivity and specificity Controloc urease test 89.2 in the antrum and 96% in corpus and 87.9 and 93.7%, respectively. The sensitivity of polymerase chain reaction was 93.3 and 94.5%, its specificity being 81.0 and 87.3%. The authors recommend histology as the first choice test for the primary diagnosis of infection, because its accuracy and ability to give both pathologic and bacteriologic information. Controloc urease test is rapid and accurate and could be used as routine diagnostic method. Polymerase chain reaction is also accurate, but time-, work- and cost-consuming. In the diagnosis of infection before eradication, it is indicated when the results of other tests are equivocal.

Magy Belorv Arch. 2000; 53: 156–159.

A *Helicobacter pylori* (Hp) felfedezése szövetszöveti kimutatáson alapult, majd néhány év alatt az invazív és nem-invazív diagnosztikai módszerek széles változtatát dolgozták ki. Egyetlen teszt sem ad optimális eredményt, kiválasztásuk és kombinációjuk függ a klinikai körülményektől, a vizsgáló tapasztalatától, az egyes tesztek hozzáférhetőségétől és az adott munkahely anyagi lehetőségeitől.^{11,17}

A maastrichti konszenzus ajánlása szerint a Hp-fertőzés diagnózisának az alapellátásban alkalmazott nem-invazív tesztekkel kell kezdődnie,²⁸ ezért várható, hogy ezek jelentősége és elterjedése növekedni fog, bár a háziorvosi praxisban elérhető pontosságuk változó.²⁵ Annál fontosabb, hogy az invazív tesztek pontosságuk mellett minél több és speciális információt adjanak (szövetszöveti jellegzetességek, virulenciafaktorok kimuta-

tása, Hp-törzsek tipizálása, tenyésztés, antibiotikum-érzékenység meghatározása).^{11,25}

Tanulmányunk célkitűzése két endoszkópos diagnosztikai módszer, a Controloc ureáz gyorsteszt és a polimeráz láncreakció (PCR) pontosságának kiértékelése a Hp-fertőzés eradikáció előtti (primer) diagnózisban, eredményeinkhez rövid irodalmi összefoglalót és ajánlást mellékelve.

Betegek és módszerek

A tanulmányba 168, gastroenterológiai szakrendelésen háziorvosi beutalóval jelentkezett beteget válogattunk be. A demográfiai adatokat az 1. táblázatban tüntettük fel. Mivel a diagnosztikai módszerek eredményét számos tényező befolyásolja, az alábbi kizárási feltételeket alkalmaztuk: 18 év alatti és 80 év feletti életkor, aktív vagy lezajlott vérzés jelei,^{14,24} idült alkoholizmus, diabetes mellitus, veseelégtelenség, cardialis decompensatio, az utóbbi 6 hónapban végzett eradikációs kezelés vagy protonpumpagátló rendszeres szedése, terhesség, cirrhosis, operált gyomor, malignus gyomorelváltozás. Ezáltal igyekeztünk homogén betegcsoportot alkotni, kizárva azon patogenetikai tényezőket, melyek a Hp kolonizációját befolyásolhatják. Az endoszkópos vizsgálatokat a betegek írásos beleegyezése után végeztük el, e célból a Magyar Gastroenterológiai Társaság által javasolt típusnyomtatványt használtuk. A vizsgálatokat FUJINON EG7 FP3 video- és UGI FP7 fiberszkóppal végeztük. Biopsziás mintavételre normál méretű, FUJINON K2416RP fogókat használtunk. A kontamináció elkerülésére a PCR mintavételre külön fertőtlenített fogót alkalmaztunk. Az endoszkópos elváltozásokat a 2. táblázat ismerteti.

Szövettani vizsgálatra 2 antrum- és 2 corpusmintát vettünk, a Hp-t módosított Giemsa-festéssel mutattuk ki, a krónikus gastritis fokozatát hematoxilín-eozin festéssel *Bajtai és mtsai* beosztása szerint³ értékeltük. Körülírt elváltozásból (polyp, ulcus, erosio) jelen vizsgálatok céljára nem történt mintavétel, ilyen esetekben a szakma szabályai szerint adekvát számú külön biopsziás mintát vettünk.

A Controloc gyorsteszt végzésére 1 antrum- és 1 corpusbiopsziát helyeztünk az előre gyártott tartályba. A tesztet szobahőmérsékleten tartottuk, az eredményt 1 óra múlva olvastuk le. PCR-vizsgálathoz 1 antrum- és 1 corpusmintát vettünk, melyeket transzport folyadékban -20 °C-on tároltunk a szállításig (1–3 nap). A meghatározást az Integrated DNA Technology (Coralville, Indiana, USA) által kidolgozott módszerrel végeztük, melyben primerként a Hp ureázgen HPLC-vel

2. táblázat. Endoszkópos diagnózis

| Diagnózis | Esetszám | % |
|------------------------|----------|-------|
| Ulcus duodeni | 71 | 42,3 |
| Ulcus ventriculi | 7 | 4,2 |
| GORD | 19 | 11,3 |
| Erosív duodenitis | 12 | 7,1 |
| Krónikus gastritis | 34 | 20,2 |
| Multiplex elváltozások | 14 | 8,3 |
| Negatív lelet | 11 | 6,5 |
| Összesen | 168 | 100,0 |

1. táblázat. Demográfiai adatok

| | |
|----------------------------------|-----------------|
| Életkor | 47,7 ± 14,6 év* |
| Férfi/nő arány | 47,3/52,7% |
| Dohányzás | 53,3% |
| Alkoholfogyasztás** | 21,9% |
| NSAID-szedés*** | 13,5% |
| H ₂ -blokkoló szedése | 46,8% |

* átlag ± SD;

** napi 40 g alatt

*** nem rendszeres, alkalmi kezelés

tisztított oligonukleotidja szerepelt (nukleotidszekvencia: 5'-CGT-GCA-TAC-CCC-TAT-TGA-GGC-C-3'), melynek molekulásúlya 8769,46. Az amplifikáció során 40 ciklus ismétlődött, 95 °C 4 percig, 94 °C 30"-ig, 60 °C 60"-ig.

Statiztika

A Hp prevalenciáját mindhárom teszt esetében külön kiszámítottuk az antrum és corpus nyálkahártyája vonatkozásában. A diagnosztikai tesztek értékelésében arany standardként a szövettan használtuk a hagyomány miatt, mivel ezzel van a legtöbb tapasztalat és a fertőzés mellett információt ad a nyálkahártya állapotáról is.¹⁰ Ehhez viszonyítva értékeltük a Controloc teszt és a PCR szenzitivitását, specificitását, pozitív és negatív prediktív értékét.

Eredmények

A szövettani vizsgálat az antrumban 62,1, a corpusban 53,2%-ban, a Controloc teszt 62,1, illetve 56,2%-ban, a PCR 65,0%, illetve 64,4%-ban mutatta ki a Hp-fertőzést; ebben az értelemben tehát a PCR bizonyult a legeredményesebbnek. Az egyes tesztek szenzitivitását, specificitását és pozitív/negatív prediktív értékét a 3. táblázatban foglaltuk össze.

Megbeszélés

Az invazív és nem-invazív tesztek kiértékelésével számos külföldi^{5,8,5,18,20,23,24,26} és hazai^{12,13} tanulmány, illetve összefoglaló közlemény foglalkozott.^{4,7,11,17,19,25} Az iro-

3. táblázat. A Controloc gyorsteszt és a PCR pontossága (arany standard: módosított Giemsa-festés)

| | Controloc | | PCR | |
|-------------------------|-----------|--------|--------|--------|
| | Antrum | Corpus | Antrum | Corpus |
| Szenzitivitás | 96,0% | 91,0% | 94,5% | 99,0% |
| Specificitás | 93,7% | 87,8% | 87,3% | 84,7% |
| Pozitív prediktív érték | 96,2% | 87,3% | 89,5% | 81,7% |
| Negatív prediktív érték | 93,7% | 84,0% | 93,2% | 98,0% |

dalom és eredményeink alapján az alábbi következtetéseket vonhatjuk le:

1. *Szövettan.* A szövettani vizsgálatot 4–7 más módszerrel összehasonlítva, szenzitivitása 90–98%-os, specificitása 85–95%-os.^{8,15,23} Hazai, 5 módszert összehasonlító tanulmányban szenzitivitása 98,6%-os, specificitása 92,9%-os volt.¹² A corpus vizsgálata csekély mértékben járul hozzá a Hp-kimutatás pontosságához, de a mintavétel fontos lehet a régió szövettani megítélésében.^{10,23} Az irodalom és adataink alapján a módosított Giemsa-festést nagyon pontosnak tartjuk, ezért invazív vizsgálatra kerülő betegeknél első ajánlott módszernek tekintjük.

A patológusok 35–50%-a, egyszerűsége miatt, a módosított Giemsa-módszert részesíti előnyben.¹⁰ Több idő-, munka- és költségigényesebb festési módszer áll rendelkezésre,^{4,10,17} melyek negatív Giemsa-festés esetén alkalmazhatók. A mintavétel helye és száma standardizált: Hp-kimutatás céljából 2 antrum és 2 corpus biopsziás minta vétele ajánlott. Ez tudományos munkában kötelező, a napi gyakorlatban a mintavétel sokszor csak az antrumra korlátozódik. A minta nagysága, száma, orientációja és metszése befolyásolhatja az eredményeket.^{4,10,17} A paraffinba ágyazott minta utóbb felhasználható speciális festés, immunhisztokémia, PCR, in situ hibridizáció céljára, melyek végzését kétes esetekben a sydneyi módosított gastritis osztályozás javasolja.¹⁰ Optimális festés nincs. A szövettani vizsgálat pontossága csökken eradikációs kezelés után. A vizsgálat függ a patológus tapasztalatától. Hematoxilin-eozin festés alkalmazásával 20 patológus véleményezett azonos metszeteket – az eredmény szenzitivitása 66, specificitása 88%-os volt.⁶ Giemsa-festés esetén a vizsgálok egyetértését kifejező kappa-érték sem optimális.¹ H₂-blokkoló vagy protonpumpagátló kezelés esetén leírták a Hp proximalis migrációját,^{2,10} mi 6 esetben (3,5%) észleltük, hogy a Hp az antrumban mindhárom módszerrel negatív, a corpusban azonban 1–3 teszt pozitív volt, aminek alapján feltételezhető a kórokozó ritka spontán vándorlása.

2. *Controloc gyorseszteszt.* Az ureáz gyorseszteszt működési elvét már röviddel a baktérium felfedezése után tisztázták. Számos gyári teszt áll rendelkezésre (CLO, Jatrox, Pyloritek, Hp-Fast, valamint az általunk vizsgált Controloc). Elterjedtek a házilag készített tesztek is, de pontosságuk változó, és az elkészített oldat csak 3–5 napig használható fel.²⁵ A gyorseszteszt szenzitivitása és specificitása 90–95% között van,^{5,8,18,23,26} az egyes tesztek között léteznek különbségek az álpozitív és az álnegatív leletek arányában.^{11,17,25} A Controloc teszttel elért eredményeink egyeznek más hazai szerzők adataival^{12,13} és igazolják a teszt kiváló pontosságát

Ennek alapján a Controloc teszt ajánlott a Hp-fertőzés primer kimutatásában, eredménye alapján elkezdhető az eradikációs kezelés még a vizsgálat napján. A biopsziás minta formalinba mártása nem befolyásolja az eredményeket.¹⁰ Egyes tesztek negatív eredmény után újra felhasználhatók.²² Nagyobb méretű vagy két minta

használata gyorsítja a reakciót, de nem növeli a pontosságot.¹⁰ Protonpumpagátló/eradikációs kezelés csökkenti a gyorseszteszt eredményességét. Vérzés esetén a gyorseszteszt szenzitivitása jelentősen csökken,^{14,24} ezért ilyen körülmények között nem tanácsos a vizsgálatot elvégezni. A jelenség oka nem ismert, azt nem a gyomorban lévő friss vér okozza. A fertőzés intenzitása befolyásolja a gyorseszteszt eredményét: pozitív reakcióhoz a mintának 10⁵ telepképző egységet kell tartalmaznia.²⁷ Relatív hátrányuk, hogy a gyomorban jelen lehetnek más ureáz termelő kórokozók is, melyek ritkán álpozitív eredményt adhatnak, illetve az ún. inoculum hatás, miszerint nagyszámú, de gyenge ureáz aktivitású baktérium hosszabb idő alatt pozitív eredményt adhat, illetve magas aktivitású, de kevés Hp nem tud pozitív reakciót adni az egyórás inkubációs idő alatt. Eredményeink alapján ezeknek valószínűleg csekély a jelentőségük a gyakorlatban.

3. *Polimeráz láncreakció.* A PCR a bakteriális DNS-lánc specifikus fragmentumait mutatja ki.^{4,10,11,17,25} A leggyakrabban használt primert ureázgénből állítják elő, de ez ronthatja a specificitást, mivel a gyomorban lehetnek más ureázgénnel rendelkező baktériumok is. A PCR elvégezhető friss biopsziából, paraffinba ágyazott mintából, gyomornedvből, fogplakkból, székletből.^{10,17,25} Több módszert dolgoztak ki, de egyik sem standardizált,¹⁷ idő- és munkaigényesek, költségesek. A biopsziás anyagon végzett PCR szenzitivitása és specificitása 95–100%,^{11,15,20,23} mások szerint nem optimális.^{10,17,25} Az általunk alkalmazott módszer biopsziás mintában a legmagasabb arányban mutatja ki a Hp-t, szenzitivitása 93–99%-os, de specificitása kisebb. Ennek oka lehet mintavételi hiba, endogén PCR-gátló anyagok jelenléte (bár ezt a módszerben igyekeztünk kiküszöbölni), illetve kontamináció. A PCR kimutatja az élő és – néhány napig – az élettelen baktériumot is. Ajánlásunk szerint a PCR sikerrel alkalmazható ott, ahol a klinikai diagnózis alapján az eradikációs kezelés erősen indokolt (lásd a maastrichti konszenzust),²⁸ de a szövettan és gyorseszteszt negatív. Ilyen esetek beteganyagunkban 3–5%-ban fordultak elő az antrumban, és 8–10%-ban a corpusban. Bár dolgozatunkban nem foglalkoztunk az eradikáció utáni eredményekkel, az irodalomból ismert, hogy a PCR hasznos a kezelés kiértékelésében, amikor a biopszia kevés baktériumot tartalmaz, melynek ureáz aktivitása nincs, és szövettanilag nem látható.^{10,17,20} Az antibiotikum-rezisztencia meghatározásában és a Hp-törzsek tipizálásában a PCR az egyik legeredményesebb módszer.^{16,21} Egyszerűbb és olcsó PCR-módszerek kidolgozása folyamatban van, így elterjedésük a rutin diagnosztikában elképzelhető.^{11,17}

IRODALOM

1. **Andrew A, Wyatt JI, Dixon MF:** Observer variation in the assessment of chronic gastritis according to the Sidney system. *Histopathology* 1994; **25**: 317–322.

2. **Atherton JC, Cocke A, Bactors M:** Detection of intragastric sites of which *Helicobacter pylori* evades treatment with amoxicillin and cimetidine. *Gut* 1995; **36**: 670–674.
3. **Bajtai A, Figus IA, Simon L, Bánki Gy:** A chronicus gastritis. IV. Adatok a chronicus gastritis patológiájához. *Orv Hetil* 1972; **113**: 2511–2516.
4. **Banai J:** A *Helicobacter pylori* kimutatásának lehetőségei. *Praxis*, 1999; **8**: 15–18.
5. **Chen YK, Godil A, Wat PJ:** Comparison of two rapid urease tests for detection of *Helicobacter pylori* infection. *Dig Dis Sci* 1998; **43**: 1636–1640.
6. **Christensen AH, Gjørup T, Hilden J:** Observer homogeneity in the histological diagnosis of *Helicobacter pylori*: latent class analysis, kappa coefficient, and repeat frequency. *Scand J Gastroenterol* 1992; **27**: 933–939.
7. **Cohen H, Laine L:** Endoscopic methods for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; **11**: S1, S3–S9.
8. **Cutler AF, Havstad S, Ma CK:** Accuracy of invasive and noninvasive tests to diagnose *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology* 1995; **109**: 136–141.
9. **Döbrönte Z:** A *Helicobacter pylori* fertőzés aktuális kérdései. *Háziorvosi Továbbképző Szemle* 1999; **4**: 39–41.
10. **Genta RM:** Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. In: Graham DH, Genta RM (szerk.): *Gastritis*. Lippincott-Raven Press, Philadelphia, 1999; 321–342.
11. **Hirschl AM, Glupczynski Y:** The year in *Helicobacter pylori* 1998. Diagnosis. *Current Opinion Gastroenterol* 1999; **15**(S): S5–S9.
12. **Juhász M, Prónai L, Zágoni T, Németh A, Herszényi L, Schandl L, Tulassay Zs:** Comparison of five different methods in the detection of *Helicobacter pylori* infection. *Zschr Gastroenterol* 1999; **37**: 424/A084.
13. **Kisfalvi I, Elek G, Györi S, Pap Á:** Comparison of Controloc H. pylori rapid urease test (Byk Gulden) with Jatrox H. pylori test for diagnosing *Helicobacter pylori* (Hp) infection. *Zschr Gastroenterol* 1999; **37**: 427/A093.
14. **Laine L, Sidhom O, Emami S, Estrada R, Cohen H:** Effect of blood on rapid urease testing on gastric mucosal biopsy specimens. *Gastroint Endoscopy* 1999; **47**: 141–143.
15. **Lerang F, Moum B, Mowinckel P, Haug JB, Ragnhildstveit E, Berge T, Bjørnklett A:** Accuracy of seven different tests for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and the impact of H₂ receptor antagonists on the results. *Scand J Gastroenterol* 1999; **33**: 364–369.
16. **Marais A, Monteiro L, Lamouliatte H, Mégraud F:** Direct detection of *Helicobacter pylori* resistance to macrolides by a polymerase chain reaction/DNA enzyme immunoassay in gastric biopsy specimens. *Gut* 1999; **44**: 463–466.
17. **Mégraud F:** Advantages and disadvantages of current diagnostic tests for the detection of *Helicobacter pylori*. *Scand J Gastroenterol* 1997; **31**(S215): S57–S62.
18. **Murata H, Kawano S, Tsuji S, Tsuji M, Iijima H, Kawai N, Hori M:** Evaluation of the Pyloritec test for detection of *Helicobacter pylori* infection in cases with and without eradication therapy. *Am J Gastroenterol* 1998; **98**: 2102–2105.
19. **Rácz I:** A *Helicobacter pylori* eradikáció hazai gyakorlata és a kezelés farmako-ökonómiai szempontjai. *Háziorvosi Továbbképző Szemle* 1999; **4**(S2): S46–S50.
20. **Rollán A, Giancaspero R, Arrese M, Figueroa C, Vollrath V, Schultz M, Vial P:** Accuracy of invasive and noninvasive tests to diagnose *Helicobacter pylori* infection after antibiotic treatment. *Am J Gastroenterol* 1997; **97**: 1268–1273.
21. **Rudi J, Rudy A, Maiwald M, Kuck D, Sieg A, Stremmel W:** Direct determination of *Helicobacter pylori* vacA genotypes and cagA gene in gastric biopsies and relationship to gastrointestinal diseases. *Am J Gastroenterol* 1999; **94**: 1525–1531.
22. **Santiago N, Medina A, Reymunde A:** Are CLO tests reusable? Developments and New Directions in *Helicobacter* Research: from the Basic Laboratory to the Patients, The North American H. pylori Meeting, Orlando, Florida, 1999; 48/P44.
23. **Thijs JC, van Zweet AA, Thijs WJ, Oey HB, Karrenbeld A, Stellaard F, Luijt DS, Meyer BC, Kleiuker JH:** Diagnostic tests for *Helicobacter pylori*: a prospective evaluation on their accuracy, without selecting a single test as gold standard. *Am J Gastroenterol* 1996; **91**: 2125–2129.
24. **Tu TC, Lee CL, Wu CH, Chen TK, Chan CC, Huang SH, Lee SC:** Comparison of invasive and noninvasive tests for detecting *Helicobacter pylori* infection in bleeding peptic ulcers. *Gastrointest Endoscopy* 1999; **49**: 302–306.
25. **van Zweet AA, Mégraud F:** The year in *Helicobacter Pylori* 1997. Diagnosis. *Current Opinion in Gastroenterol* 1998; **14**(S1): S27–S33.
26. **Weston AP, Campbell DR, Hassanein RS, Cherian R, Dixon A, McGregor DH:** Prospective, multivariate evaluation of CLO test performance. *Am J Gastroenterol* 1997; **92**: 1310–1315.
27. **Xia HX, Keeana CT, O'Morain C:** The pre-formed urease activity of *Helicobacter pylori* as determined by the viable cell-count technique – clinical implications. *J Med Microbiol* 1984; **40**: 453–459.
28. **XXX:** Current European Management of *Helicobacter pylori* Infection. The Maastricht Consensus. *Gut* 1997; **41**: 8–13.